Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr.med.K.Kochsiek

Intravenöse und orale Clearance von Lidokain bei Ratten mit leichter ANIT-Cholestase

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Erwin M o r a

aus Dingolfing

Würzburg, den 10.Februar 1981

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr.med.K.Kochsiek

Intravenöse und orale Clearance von Lidokain bei Ratten mit leichter ANIT-Cholestase

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Erwin M o r a

aus Dingolfing

Würzburg, den 10.Februar 1981

Referent: Prof.Dr.med.E.Richter

Korreferent: Prof.Dr.med.H.A.Kühn

Dekan: Prof.Dr.med.K.-H.Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 26.Juni 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

Meinen Eltern in großer Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Abkürzungen	7
III.	Material	9
IV.	Methoden	12
	1. Tierhaltung und Tierernährung	12
	2. Auslösung der experimentellen Erkrankung	12
	3. Operationstechnik und Versuchsdurchführung	12
	4. Bestimmung der Serumwerte	16
	5. Bestimmung des Lidokaingehalts im arteriovenösen Mischblut	17
	6. Bestimmung des H^3-markierten Lidokains	18
	7. Berechnung der pharmakokinetischen Kenngrößen	20
	8. Statistische Berechnungen	23
V.	Ergebnisse	24
VI.	Diskussion	54
VII.	Zusammenfassung	61
VIII.	Literaturverzeichnis	63

I. E I N L E I T U N G

Für die Beurteilung der klinischen Anwendbarkeit von Arzneimitteln und deren Wirkungen spielt die Fähigkeit des Organs Leber, ausscheidungspflichtige Metaboliten zu bilden, eine wesentliche Rolle. Lidokain, das in der Medizin als Antiarrhythmikum und in der Zahnheilkunde als Lokalanaesthetikum Anwendung findet, wird zum größten Teil in der Leber abgebaut.

Für Lidokain als high-clearance-substance ist dabei sein ausgeprägter hepatischer first-pass-Effekt (14,36) seit längerer Zeit bekannt und Gegenstand zahlreicher wissenschaftlicher Arbeiten (13,20,30,49,58). Bei der ersten Passage durch die gesunde menschliche Leber werden 85-95 % einer oral verabreichten Dosis abgefangen und metabolisiert, was in der Differenz der Plasmaspiegel nach oraler und intravenöser Applikation deutlich wird (1).

Als Hauptabbauprodukt entsteht durch Deethylierung Monoethylglycinxylidid (MEGX), das in sehr geringen Mengen durch nochmalige Deethylierung zu Glycinxylidid (GX) abgebaut werden kann (20) (s.Abb.1). Diese Metabolite besitzen aber immer noch eine beträchtliche kreislaufaktive Eigenwirkung (4,5,32,34,53,54). 4-Hydroxy-2,6-Dimethylanilin stellt neben Spuren von 3-Hydroxylidokain die endgültige Ausscheidungsform dar (22).

In früheren Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß der first-pass-Effekt von Lidokain bei Patienten mit portal dekompensierter Lebercirrhose aufgehoben ist (12). Auch

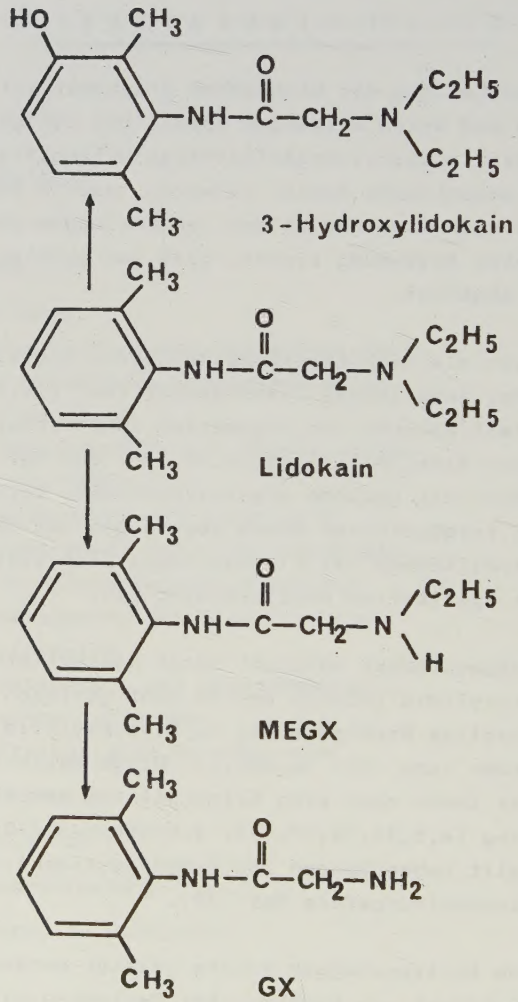


Abb.1 Mögliche Abbauwege von Lidokain bei Ratten, Hunden, Meerschweinchen und beim Menschen

andere klinisch wichtige Pharmaka, wie z.B.Pentazozin, Propoxyphen, Salizylamid, Propranolol, Labetalol, Clomethiazol, weisen bei Patienten mit Lebercirrhose und portaler Hypertension gegenüber lebergesunden Patienten eine deutlich erhöhte orale Bioverfügbarkeit auf (21,24, 33,37).

Dieser Befund kann durch eine gestörte hepatische Extraktion erklärt werden. Bestimmende Größen für die Plasmaverschwinderate eines Stoffes stellen dabei der Transport durch die Hepatozytenmembran, der intrazelluläre Transport, die enzymatische Umwandlung, die Sekretion in die Galle und oder eine verminderte portal-venöse Durchblutung der Leber mit portosystemischen Shunts dar (23).

Da bei oraler Anwendung von Pharmaka, die einer first-pass-Extraktion unterliegen, bei Lebergesunden im Vergleich zur intravenösen Applikation sehr hohe Dosierungen verwendet werden, sind Patienten mit Lebererkrankungen und verminderter hepatischer Extraktionsrate gefährdet, wenn nicht eine Dosisanpassung erfolgt.

Im Tierversuch können solche Lebererkrankungen experimentell erzeugt und in verschiedenen Schweregraden modellhaft durchgespielt werden. Für die Versuche der vorliegenden Arbeit wurde das Modell der durch ANIT induzierten Cholestase wegen seiner einfachen Handhabung und Reproduzierbarkeit gewählt.

Die einmalige orale Applikation von ANIT bei Ratten führt zu einer an klinischen Laborwerten klar ersichtlich werdenden intrahepatischen Cholestase (6,56). So kommt es im Blut zu einem zeitabhängigen Anstieg des Bilirubingehaltes, zu einem Aktivitätsanstieg der GPT, der alkalischen Phosphatase, der Leuzin-Amino-Peptidase und zu einer Steigerung der Protein- und Cholesterinsynthese. Eine Normalisierung dieser Werte tritt etwa nach drei bis vier Wochen wieder ein. Auffällig ist, daß sich die klinisch-chemischen Veränderungen am deutlichsten ca. 72 Stunden nach ANIT-Gabe manifestieren, während die morphologisch-pathologischen Erscheinungsformen schon nach 24 Stunden ein Maximum erreichen (7,9,25,31,46). Der Gallefluß beginnt 12 Stunden nach ANIT-Gabe signifikant abzunehmen und versiegt nach weiteren 12 Stunden fast völlig. Auch der Gallesekretionsdruck folgt gleichsinnig diesem Ablauf (6,46).

Lichtmikroskopische Untersuchungen an der Rattenleber zeigen folgende histologische Befunde der Leberparenchymzellen: homogenes Zytoplasma, Vergrößerung der Zellkerne, fibroblastische Veränderungen, entzündliche Schwellung der Periportalfelder und herdförmige Zellnekrosen in den Leberläppchen. Daneben findet man eine Zunahme der Kupfferschen Sternzellen, sowie eine entzündliche Infiltration um die intralobulären Gallengänge (9,28,29). Wesentlichere Wirkungen übt ANIT aber auf das Gallengangsystem aus, wobei hier den hyperplastisch - proliferativen Vorgängen eine entscheidende Rolle zukommt. Weiterhin kann eine Zerstörung von Gallengangepithelien, von Gallengängen und eine Anhäufung von Zelltrümmern in den interlobulären Ductuli nachgewiesen werden (16,59).

Elektronenoptisch fanden SPYCHER und RÜTTNER (55) Defekte der Hepatozytenmembran, das Auftreten von Vakuolen und eine deutliche Zunahme der Zahl der Gallenkapillaren. Die Mitochondrien weisen Schwellungen und Brüche in ihren äußeren Membranen auf; ebenfalls sind die lysosomalen Membranen geschädigt. Das glatte und rauhe endoplasmatische Reticulum ist stark hypertrophiert und zeigt nicht mehr das typische Bild der parallelen Lamellenpaare. In den Epithelien der erweiterten Gallengänge sieht man Zeichen der Nekrose, in den Kupfferschen Sternzellen ein Anwachsen der „dense bodies" (40,52,57). Diese Befunde werden auch durch histochemische Untersuchungen bestätigt (39).

Die ultrastrukturellen, biochemischen Vorgänge, die nach Gabe von ANIT zu den beschriebenen Veränderungen führen, sind keineswegs geklärt. Durch das System der microsomalen cytochrom-P-450 abhängigen mischfunktionellen Oxidase (7) wird ANIT in der Leberzelle zu einem reagiblen Metaboliten umgewandelt, dessen Toxizität in einer hohen Affinität zu microsomalem Leberprotein bestehen könnte (8,47). Dadurch könnten Enzymsysteme, die die Gallensäurebildung gewährleisten, so geschädigt werden, daß veränderte Gallensäuren entstehen, die keine regulären Micellen bilden und somit einen normalen Gallefluß unmöglich machen (17,41). Die Bildung von so veränderten Gallensäuren wird dabei auch durch andere Hypothesen wahrscheinlich gemacht (42).

Mehrere konkurrierende Ursachen müssen wohl für die Hyperbilirubinämie verantwortlich gemacht werden:

1. Leberzellschaden mit Abbau von Hämoprotein,
2. Regurgitation von Galle durch zerstörte Ductuli,
3. Hämolyse,
4. verminderte Aufnahme von Bilirubin durch die Leberzelle (38,48,52).

Diese Vorgänge scheinen dabei die Cholestase weiterhin im Sinne eines Circulus vitiosus zu verstärken.

Gegenstand dieser Arbeit sind folgende Problemstellungen:

1. Beschreibung der oralen und intravenösen Pharmakokinetik von Lidokain im Tierversuch an der Ratte, sowohl an gesunden Kontrolltieren als auch an Tieren mit experimentell induzierter leichter ANIT--Cholestase.
2. Bioverfügbarkeit bei lebergesunden und -kranken Tieren.
3. Zusätzliche Überprüfung der hepatischen Extraktionsrate direkt in einer Versuchsanordnung mit der Rattenleber als input-output-Modell in situ mittels H^3-markiertem Lidokain.

Anhand der erhobenen Befunde soll geklärt werden, ob bei leichten Lebererkrankungen die relativ hohe Dosierung von high-clearance-Pharmaka eine Gefährdung bewirkt.

II. ABKÜRZUNGEN

A	Ausgangskonzentration
a_1	Eliminationskonstante
Abb.	Abbildung
ANIT	α-Naphthyl-Isothiozyanat
AP	alkalische Phosphatase
AUC	area under curve
C_{max}	maximal erreichte Plasmakonzentration
Ci	Curie
$Cl_{i.v.}$	Clearance nach intravenöser Infusion
Cl_{oral}	Clearance nach oraler Applikation
cpm	counts per minute
$D_{i.v.}$	Dosis nach intravenöser Infusion
D_{oral}	Dosis nach oraler Applikation
%/D	% der applizierten Dosis
E	Extraktionsrate
E_x	Extinktion
F	Bioverfügbarkeit
Ges.E.	Gesamt-Eiweiß
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
GX	Glycinxylidid
HP	Rechner Hewlett Packard 9815 A

i.v.	intravenös
KG	Körpergewicht
$M \pm s_{\bar{x}}$	Mittelwert und Standarderror
MEGX	Monoethylglycinxylidid
n	Anzahl der Tiere pro Kollektiv
n.s.	nicht signifikant
p	Signifikanzschranken
Q	Leberdurchblutung
r	Korrelationskoeffizient
SD	Standard Deviation
t/2	Eliminationshalbwertszeit
t_{max}	Zeitpunkt für die maximale Plasmakonzentration
Tab.	Tabelle
Upm	Umdrehungen pro Minute
Vd_{area}	Verteilungsvolumen
VT	Versuchstiere

III. M A T E R I A L

Versuchstiere

Männliche Ratten vom Stamm FW 49	Fa.Thomae, Biberach/Riss

Substanzen

Äthanol	Carl Roth KG, Karlsruhe
Äther p.a.	Fa.E.Merck,AG, Darmstadt
Ammoniaklösung p.a. min. 25 % zur Analyse NH_3	Fa.E.Merck,AG, Darmstadt
Ampuwa	Fresenius, Bad Homburg
ANIT	EGA-Chemie, Steinheim
Chloroform zur Analyse $CHCl_3$ stabilisiert mit Äthanol	Fa.E.Merck,AG, Darmstadt
Dolantin ^{R}	
Flüssiger Stickstoff	Tyzka, Würzburg
Flüssiges Helium	Tyzka, Würzburg
G - ^{3}H -Lidocaine hydrochloride aqueous solution TRQ. 1397 5 mCi/ mmol	Radiochemical Centre Amersham England
Monitrol	DADE Division, American Hospital Supply Corporation
Olivenöl	Siegfried, Zofingen
Pentobarbital	Nembutal, Hersteller Abbott, Schweiz Deutsche Vertretung Boehringer, Ingelheim
physiolog. NaCl-Lösung	Fresenius, Bad Homburg
Ringerlösung	nach DAB 7
Synthetische Luft	Tyzka, Würzburg
Szinti-Gel Rotiszint 33	Carl Roth KG, Karlsruhe
Trockenfutter	Altromin GmbH, Lage/Lippe

Thrombophob ad inj.	Nordmark-Werke GmbH
Xylocain R 20 % 200 mg Lidokain-hydrochlorid pro 1 ml Lösung	ASTRA Chemikals GmbH Wedel/Holstein

Testansätze

Testansätze der Fa.C.F.Boehringer & Söhne, Mannheim

Bilirubin	Nr. 15 944
GPT	Nr. 15 956
AP	Nr. 15 987

Biuretreagenz	Kalium-Natrium-Tartrat, 0,2 n NaOH $CuSO_4$ x 5 H_2O, Kaliumjodid

Gallensäurebestimmung

Solid Phase Radio Immunoassay Kit (^{125}J)	Fa.Becton, Dickinson, Heidelberg, W.Germany

Geräte

Einmal-Mikropipetten	Blaubrand intra Mark R Cat.No. 708733
Infusionspumpe	Unita I, B.Braun, Melsungen
Katheter aus Teflon (0,5 x 1)	Deutsch & Neumann -GmbH & Co.KG- Berlin
Labor-Stoppuhren	Junghans
Mixer	Hartenstein, Würzburg
Photometer	Eppendorf Photometer 1101 M Eppendorf Gerätebau, Hamburg
Präzisionswaagen	A.Sauter KG, Ebingen

Radioaktivitätsmessungen	Tri-Carb Scintillations--Spectrometer Modell 3380, Fa.Hewlett Packard, Frankfurt/Main
Spektralphotometer	DP-Digital-Spektralphotometer, Ernst Leitz GmbH,Wetzlar
Statistische Berechnungen	Wang-Kleinkomputer, Modell 462-1 Wang Laboratories GmbH Frankfurt/Main
	Programmierbarer Rechner Hewlett Packard Modell 9815 A Fa.Packard, Frankfurt/Main
Verdampfungsgerät	Daglef Patz KG Chemische und technische Spezialgeräte, Wankendorf
Zentrifugen	Tischzentrifuge Typ UI 2, sowie MINIFUGE, temperaturstabilisierte Zentrifuge, beide von Heraeus Christ GmbH, Osterode
	Hettich Rotanta S
	Andreas Hettich, Tuttlingen

IV. METHODEN

1. Tierhaltung und Tierernährung

Die im Mittel 234 ± 10 g schweren männlichen Ratten des FW 49-Stammes wurden zu je fünf in Käfigen gehalten. Sie erhielten Altromin-Standard-Diät und Leitungswasser ad libitum. Konstante Luftfeuchtigkeit, eine Raumtemperatur von 25° C und ein normaler Tag-Nacht-Rhythmus waren gewährleistet.

Als Kontrollkollektiv dienten je 6 unbehandelte lebergesunde Tiere.

2. Auslösung der experimentellen Erkrankung

Die Versuchstiere der Cholestase-Gruppe erhielten 12 Stunden vor dem Versuch mittels einer Schlundsonde 20 mg ANIT/kg KG gelöst in Olivenöl (Lösungsansatz: 4 mg ANIT/1 ml Olivenöl). Vor der Applikation von ANIT erhielten die Tiere 12 Stunden lang kein Futter, danach wieder Futter und Wasser ad libitum.

3. Operationstechnik und Versuchsdurchführung

3.1 Durchführung der Operation zum Kinetik-Modell

In der linken Leistenbeuge der Ratten wurde unter leichter Äthernarkose das Femoralgefäßbündel freigelegt. Der Nervenstrang und die beiden Gefäße wurden einzeln dargestellt. Danach wurde die Arterie einfach, die Vene aber zweifach angeschlungen, bevor sie von medial zwischen den beiden Schlingen eröffnet wurde. Ein Teflonkatheter (0,5 x 1) ließ sich jetzt ca. 3 cm tief einführen. Nach Fixieren des Katheterschlauches

durch die beiden Venenligaturen konnte die Infusion angeschlossen werden.
Um während des Versuches eine ungehinderte Blutabnahme zu gewährleisten, wurde anschließend den Tieren die Schwanzspitze ca. 2 cm weit abgeschnitten und mit einer Gefäßklemme versehen.
Die Operationsdauer schwankte in der Regel zwischen 15 und 20 Minuten.

3.2 Anordnung und Durchführung des Versuches

Während des Versuches wurden die Tiere zum Ausgleich von Wärmeverlusten aus ca. 70 cm Entfernung mit Rotlicht bestrahlt. Mit der Beendigung der Operation wurde die Äthernarkose abgesetzt, um eine Überlagerung mit der narkotisierenden Wirkung des Lidokains zu vermeiden. Nach Entnahme eines Blutleerwertes aus den Schwanzgefäßen erfolgte die Infusion mittels einer Pumpe bei einer Geschwindigkeit von 0,1 ml/min über eine Zeit von 10 min, entsprechend einer Lidokainmenge von 3 mg/ ml Lösung.

Zusammensetzung der Infusionslösung:

Lidokain	2,0 %	0,15 ml
NaCl-Lösung	0,9 %	add. 1,00 ml Gesamtlösung.

Zur Hälfte und am Ende der Infusionszeit erfolgte je eine Blutentnahme von 0,1 ml mit einer Einmal--Mikropipette. Nach 10 min wurde die Infusion durch Abschalten der Pumpe beendet. Außerdem wurde die Stoppuhr wieder von 0 min aus erneut in Gang gesetzt. Bis die Tiere wieder das Bewußtsein erlangten, wurden der Katheter gezogen, die Vene und die Arterie ligiert und der Hautschnitt genäht und zugepflastert. Anschließend wurden die Ratten in einen Leerkäfig gesetzt, dem sie nur zu den jeweiligen Blutentnahmen

aus der Schwanzspitze -die Gefäßklemme war inzwischen durch Pflaster ersetzt worden- entnommen wurden. In wachem Zustand sammelte man von den Tieren dann 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 und 240 Minuten post infusionem jeweils eine Blutprobe von 0,1 ml und brachte sie mittels 0,4 ml in einem Reagenzglas vorgegebenen H_2O zur Hämolyse.
Am Ende des Versuches lieferte eine Punktion der Bauchaorta nach Eröffnen der Bauchhöhle unter erneuter Äthernarkose genügend Blut zur Bestimmung der Laborwerte.

3.3 Durchführung der Operation zum Extraktionsmodell

Bei den im Vergleich zu den Kinetik-Versuchen gleichermaßen vorbehandelten Ratten wurden in derselben Weise wie unter 3.1 beschrieben die Femoralgefäße einzeln dargestellt. Lediglich statt der Vene erhielt jetzt die Arterie zwei Anschlingungen, zwischen denen sie von medial eröffnet und mittels eines Teflonkatheters (0,5 x 1) ca. 2 cm weit kanüliert wurde. Der Katheter wurde sofort und unmittelbar vor Beginn des Versuches gründlich mit 0,9%-NaCl-Lösung durchgespült und sein freier Flansch mit einem Stöpsel verschlossen.
Daraufhin wurde die Bauchhöhle in der Mittellinie vom Processus xiphoideus bis ca. 1 cm vor der Symphyse eröffnet. Die Punktion des Gallenganges geschah ca. 1 cm proximal der Mündung der Pankreasausführungsgänge, wodurch sich ein weicher Teflonkatheter gut sichtbar bis zur Leberpforte einführen ließ.

Die Dauer der Operation betrug zwischen 20 und 25 Minuten. Nach Eröffnung der Bauchhöhle mußte darauf geachtet werden, daß kein Flüssigkeitsverlust über die serösen Häute und keine Auskühlung eintrat.

3.4 Anordnung und Durchführung des Versuchs zum Extraktionsmodell

Nach Entnahme eines Blut- und Galleleerwertes wurde eine Tuberkulinspritze, gefüllt mit 0,1 ml G - ^{3}H -Lidocaine hydrochloride aqueous solution 5 mCi/mmol, in die Pfortader distal der Einmündung der Vena mesenterica superior eingestochen und in dieser Stellung festgehalten. Wenn sich jetzt nach Entfernung des Stöpsels aus dem arteriellen Katheter ein ungehinderter Blutfluß zeigte, wurde zur gleichen Zeit der Inhalt der Tuberkulinspritze in die Pfortader injiziert und die Stoppuhr in Gang gesetzt. Parallel wurden dann sowohl über eine Dauer von 2 min aus dem hellroten arteriellen Blutstrom alle 10 s 50 µl Blut mit einer Einmal-Mikropipette als auch über eine Dauer von 10 min die sich aus der künstlichen Gallefistel in jeweils 2 min entleerenden Gallenmenge aufgefangen.

Um ein Austrocknen zu verhindern, wurde während des Versuches die eröffnete Bauchhöhle soweit wie möglich mit Zellstoff abgedeckt und nach Bedarf mit Ringerlösung befeuchtet.

Am Ende des Versuches wurden die Tiere mit einer Pentobarbitalinjektion intracardial ad exitum gebracht.

3.5 Anordnung und Durchführung der oralen Kinetikversuche

Die Ratten erfuhren dieselbe Vorbehandlung wie diejenigen in den entsprechenden i.v.-Kollektiven. Nach Entnahme eines Blutleerwertes aus den Schwanzgefäßen erhielten die Tiere mittels einer Schlundsonde 24 mg Lidokain, entsprechend 1,2 ml einer 2% Lösung. Anschließend wurde ihnen in wachem Zustand bei 2,5, 5, 7,5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 und 240 Minuten nach Lidokaingabe aus den Schwanzgefäßen je eine Blutprobe von 0,1 ml entnommen, die wieder mit 0,4 ml H_2O hämolysiert wurde.

Die Laborwerte gewann man in gleicher Weise wie bei den Tieren mit intravenöser Infusion.

4. Bestimmung der Serumwerte

Das durch Punktion der Aorta abdominalis gewonnene Blut wurde für 10 min bei ca. 5 000 Upm zentrifugiert und das Serum abpipettiert.

4.1 Proteinbestimmung im Serum

Die Bestimmung des Ges.E. im Serum erfolgte mittels der Biuretreaktion nach untenstehendem Verfahren:

1. Versuchsansatz:	0,1 ml	Serum
	5,0 ml	physiol.NaCl-Lösung
	5,0 ml	Biuret-Reagenz
2. Leerwert:	5,0 ml	physiol.NaCl-Lösung
	5,0 ml	Biuret-Reagenz
3. Standard:	0,1 ml	Monitrol (= 7,0 mg Protein)
	5,0 ml	physiol.NaCl-Lösung
	5,0 ml	Biuret-Reagenz

Die Ansätze blieben 30 min bei Raumtemperatur stehen. Anschließend wurde im Eppendorf-Photometer 110/M bei 546 nm die Extinktion bestimmt.

Die Berechnung des Proteingehaltes erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{Proteingehalt im Serum} = \frac{7{,}0 \times E_{x\text{Probe}}}{E_{x\text{Standard}}} \left[\frac{\text{g Protein}}{100 \text{ ml Serum}}\right] ;$$

4.2 Bestimmung des Bilirubingehaltes, der alkalischen Phosphatase und der Glutamat-Pyruvat-Transaminase
Der Bilirubingehalt, die Aktivität der alkalischen Phosphatase und der Glutamat-Pyruvat-Transaminase des Serums wurde mit der angegebenen Testkombination der Fa.Boehringer, Mannheim, im Eppendorf--Photometer und im DP-Digital-Spectralphotometer bestimmt.

4.3 Bestimmung der Gallensäuren
Die Bestimmung der konjugierten Gallensäuren im Serum erfolgte mit dem Solid Phase Radio Immunoassay Kit (^{125}J) der Fa.Becton Dickinson, Heidelberg, W.Germany.

5. Bestimmung des Lidokaingehaltes im arterio-venösen Mischblut

5.1 Extraktionsmethode
Zur quantitativen Bestimmung von Lidokain wurden die mit jeder Blutprobe gewonnenen 0,5 ml Hämolysat (außer Leerwertprobe) zunächst mit 0,2 µg Dolantin^{R} als internem Standard versetzt. Nach Hinzufügen

von 0,4 ml NH_4OH (25 %) -Leerwertprobe: 0,5 ml) - und kurzem Mischen folgte eine zweimalige Extraktion mit je 2,5 ml $CHCl_3$ über 30s mit anschließendem Zentrifugieren in der MINIFUGE bei ca. 5'000 Upm und konstanter Temperatur von 4° C. Danach konnten die vereinigten organischen Phasen in Spitzgläser abpipettiert werden, worin sie erst bei 35° C im N_2-Strom eingedampft wurden. Nach Lösen in 50 µl absolutem Äthanol konnten sie gaschromatographisch vermessen werden.

5.2 Gaschromatographische Bedingungen

Gaschromatograph der Firma Hewlett Packard (HP 5710) mit stickstoffselektivem Detektor (HP 18 789 A).

Kapillarsäule (15 m SCOT OV 17) I.D. 0,5 mm, Trockeninjektor.

Temperaturen: Injektion port 250° C;
Säule 180 - 230° C

(5°/min Temperatur programmiert), Detektor 300° C.

Gasflows: Trägergas Helium 7 ml/min; Detektor: synthetische Luft 60 ml/min; H_2 30 ml/min; Hilfsgas am Ende der Säule zur Verbesserung der Detektorleistung: Helium 23 ml/min.

Quantitative Auswertung: Automationssystem HP 3385 A

Ein charakteristisches Kapillargaschromatogramm zeigt Abb. 2.

6. Bestimmung des H^3-markierten Lidokains

6.1 Im arteriellen Blut

Mittels 100 µl vorgelegten H_2O wurden von jeder 50 µl-Blutprobe in einem Zentrifugengläschen 150 µl

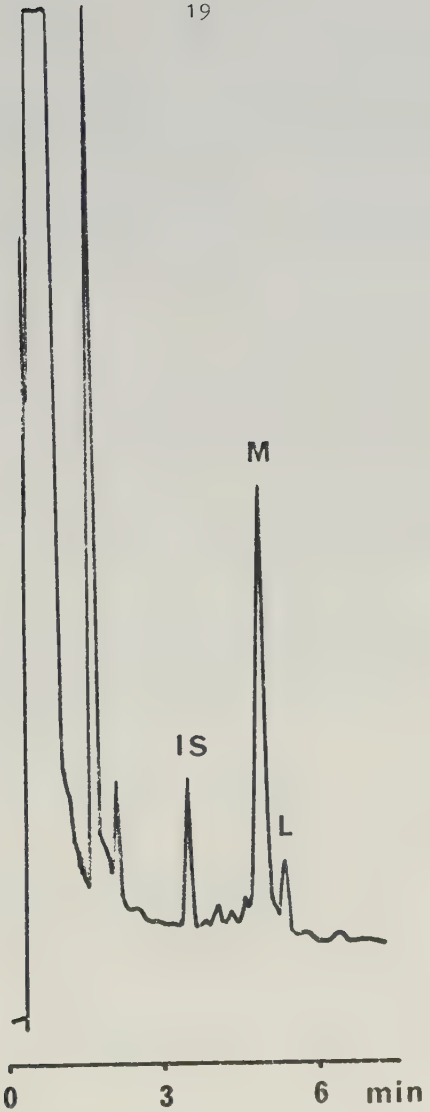


Abb. 2 Kapillar-Gaschromatogramm eines 0,1 ml Rattenvollblutextraktes. 0,87 µg/ml Lidokain (L), 10,37 µg/ml MEGX (M) und 2 µg/ml Dolantin^{R} (IS)

Hämolysat gewonnen, von welchem man nach kurzem Mischen 50 µl abpipettierte. Diese wurden in einem Zählgläschen mit 20 ml Szintigel versetzt, nochmals geschüttelt und gut verschlossen zur Bestimmung der Radioaktivität in ein Tri-Carb Szintillationsspektrometer Modell 3380 der Firma Hewlett Packard, Frankfurt/Main, gestellt.

6.2 In der Galle

Durch Wiegen der Gefäße vor und nach der Galleentnahme ließ sich die in jeweils 2 min erhaltene Gallenmenge bestimmen. Nach gründlichem Durchmischen wurden dann von jeder Probe 10 µl Galle in ein Zählgläschen pipettiert und mit 20 ml Szintigel versetzt. Die Bestimmung der Radioaktivität erfolgte wie unter 6.1.

7. Berechnung der pharmakokinetischen Kenngrößen (15)

7.1 Die Fläche unter den Plasmakonzentrationskurven

$$(AUC_{i.v.},\ AUC_{oral}\ \left[\frac{\mu g \times min}{ml}\right])$$

wurde mit Hilfe des HP-Programms „General Utilities and Text Routines Part.No. 09815 - 10001" nach der Trapezregel berechnet.

7.2 Durch Einbeziehung der Größe der Gesamtdosis ($D_{i.v.}$, D_{oral} [mg]) lassen sich die Clearancewerte folgendermaßen definieren:

$$Cl_{i.v.} = \frac{D_{i.v.}}{AUC_{i.v.}} \left[\frac{ml}{min}\right];$$

$$Cl_{oral} = \frac{D_{oral}}{AUC_{oral}} \left[\frac{ml}{min}\right];$$

7.3 Für jedes Tier, das Lidokain durch intravenöse Infusion erhielt, wurde die Halbwertszeit t/2 errechnet.
Dabei wurde davon ausgegangen, daß die Plasmaverschwinderate des Pharmakons einer Kinetik 1.Ordnung unterliegt und deshalb einer einfachen Exponentialfunktion folgt:

$$y = A \times e^{-a_1 t}; \quad (I)$$

y ist die jeweilige Konzentration zum Zeitpunkt t, A die Ausgangskonzentration [mg/ml] und a_1 die Eliminationskonstante.

Die Richtigkeit der oben erwähnten Annahme wurde durch rechnerische Bestimmung des Korrelationskoeffizienten r aus den gewonnenen Meßwerten bestätigt, da alle Kurvenverläufe einheitlich eine ausreichende lineare Korrelation ($r > 0{,}9$) aufwiesen. Auflösen der Gleichung (I) nach der Zeit t führt zu folgender Formel:

$$\frac{\ln A - \ln y}{a_1} = \Delta t;$$

Daraus ergibt sich die Eliminationshalbwertszeit t/2, in der ein beliebiger Blutspiegelwert genau auf die Hälfte seiner ursprünglichen Größe abfällt, durch die Beziehung:

$$t/2 = \frac{\ln 2}{a_1} [\text{min}]; \quad \text{mit } y = A/2 \text{ und } \Delta t = t/2,$$

7.4 Das Verteilungsvolumen Vd_{area} wird durch folgende Gleichung beschrieben:

$$Vd_{area} = \frac{Cl_{i.v.} \times t/2}{\ln 2} \left[mm^3\right];$$

7.5 Die Bioverfügbarkeit F eines Pharmakons wird durch den Quotienten

$$F = \frac{Cl_{i.v.}}{Cl_{oral}} = \frac{AUC_{i.v.} \times D_{oral}}{AUC_{oral} \times D_{i.v.}} \left[\%/D\right];$$

ausgedrückt.

7.6 Die Extraktionsrate E ist definiert als

$$E = 1 - F ;$$

7.7 Die Leberdurchblutung Q bei oral- oder i.v.-belasteten Versuchstieren wird folgendermaßen errechnet:

$$Q = \frac{Cl_{i.v.}}{E} \left[\frac{ml}{min}\right];$$

$$Q = \frac{Cl_{oral} \times (1-E)}{E} \left[\frac{ml}{min}\right];$$

8. Statistische Berechnungen

Durch Anwendung des HP-Programms „Non Parametric Statistics-Statistics Vol.3, Part.No. 09815 - 15001" wurden die Signifikanzen nach dem U-Test berechnet, wobei Werte von $p < 0{,}05$ als ausreichend signifikant betrachtet wurden. Die Schranken der Standardnormalverteilung für die zweiseitige Fragestellung wurden aus (51) entnommen.

Die Koordinatenwerte für die Kurve in der Abbildung 7 wurden unter Verwendung des gleichen HP-Programms mit gleichzeitiger Berücksichtigung der statistischen Aussagekraft nach dem Family Regress Test berechnet.

V. E R G E B N I S S E

1. Ergebnisse der pharmakokinetischen Versuche
   In den ersten beiden Tabellen sind die biologischen Daten und die Werte der Leberfunktionsproben sowohl des Kontrollkollektivs als auch des Kollektivs mit ANIT-Cholestase dargestellt. Dazu werden die Tiere der oralen und intravenösen Versuchsgruppen entsprechend ihrer Kollektivzugehörigkeit jeweils in einer gemeinsamen Tabelle zusammengefaßt.

   Die mit ANIT vorbehandelten Ratten zeigen im Vergleich zur Kontrollgruppe noch keine erhöhten Bilirubinwerte, dagegen eine deutliche Erhöhung der GPT, der AP und der konjugierten Gallensäuren im Serum. Auch ein mäßiger Anstieg des Proteins im Serum kann festgestellt werden.

   Die Tabellen 3, 4, 5 und 6 zeigen die gemessenen Lidokain-Plasmakonzentrationen in Abhängigkeit von der Zeit nach intravenöser und oraler Verabreichung in Verbindung mit der daraus errechneten AUC. Die mittleren Lidokain-Plasmakonzentrationen der vier Kollektive sind, ebenso wie die AUC-Werte in Tabelle 9, in den Tabellen 7 und 8 einander gesondert gegenübergestellt. Daraus wird ersichtlich, daß die Plasmakonzentrationen von Lidokain in der intravenösen Versuchsgruppe bei den Tieren mit Cholestase gegenüber den Kontrolltieren signifikant erniedrigt sind. Zwischen den oralen Kollektiven ist keine solche Beziehung feststellbar. Dieses Ergebnis spiegelt sich in den mittleren AUC-Werten wieder.

Rattennummer	KG g	Bilirubin mg/100 ml	GPT U/l	AP U/l	Protein g/100 ml	Konj.Gallensäuren µmol/l
45	231	0,26	11,2	251	4,80	2,2
48	232	0,16	9,4	181	3,65	1,3
107	215	0,30	12,3	276	3,95	2,5
108	287	0,16	13,6	325	4,11	1,9
133	238	0,24	19,1	306	4,65	2,0
134	226	0,24	8,5	186	4,90	2,8
47	241	0,43	13,1	268	5,00	1,6
50	247	0,16	12,7	349	4,62	2,9
55	172	0,30	14,8	283	4,80	3,4
130	233	0,11	10,9	268	4,22	2,1
139	212	0,32	10,2	300	4,65	2,5
140	220	0,22	7,6	160	4,38	3,2
$\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	230 ± 8	0,24 ± 0,02	12 ± 0,9	262 ± 17	4,47 ± 0,12	2,4 ± 0,2

Tab.1 Biologische Daten und Leberfunktionsproben aller untersuchten Kontrolltiere (n = 12)

Rattennummer	KG g	Bilirubin mg/100 ml	GPT U/l	AP U/l	Protein g/100 ml	Konj.Gallensäuren µmol/l
85	238	0,11	13,1	337	5,90	3,6
88	217	0,11	15,9	317	6,26	133,6
89	213	0,13	72,5	318	4,73	23,3
95	237	0,24	-	275	8,75	-
96	236	0,21	12,2	333	4,86	2,3
145	230	0,19	31,5	331	4,16	5,7
69	232	0,22	47,1	465	3,81	-
70	260	0,27	22,7	388	3,70	3,2
71	247	0,27	31,4	570	4,12	11,9
72	243	0,13	41,0	513	4,31	14,6
142	243	0,43	25,1	494	5,90	-
143	238	0,11	21,2	334	5,09	-
$\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	237 ± 4	0,19 ± 0,02	30 ± 7	385 ± 31	5,06 ± 0,49	24,8 ± 12,4

Tab.2 Biologische Daten und Leberfunktionsproben aller untersuchten VT mit ANIT-Cholestase (n = 12)

Lidokain-Plasmakonzentrationen in µg/ml und AUC in µg x min/ml

Ratten-nummer	während Infusion min		nach der Infusion min											AUC µg x min/ml
	5	10	5	10	15	30	45	60	90	120	150	180	210	240	
45	1,48	2,52	-	-	1,55	1,33	1,48	1,28	1,09	1,49	0,98	0,99	-	-	248,5
48	1,57	2,26	-	-	1,26	0,97	0,85	0,47	0,56	0,48	-	0,71	0,30	0,32	177,5
107	5,61	5,72	3,13	3,26	3,14	3,01	2,18	1,58	0,81	0,38	0,10	0,05	-	-	272,9
108	3,39	2,99	1,75	1,57	2,04	0,89	0,55	0,30	-	0,82	0,00	0,00	-	-	130,2
133	2,58	3,02	2,74	2,29	1,93	1,31	1,22	0,51	0,21	0,18	0,21	0,30	-	0,04	148,1
134	4,47	5,21	3,48	2,54	2,09	1,91	0,94	0,78	0,49	0,06	0,43	0,14	0,24	0,25	193,1
$\bar{M} \pm$	3,2±	3,6±	2,8±	2,4±	2,0±	1,6±	1,2±	0,8±	0,6±	0,6±	0,4±	0,4±	0,3±	0,2±	195 ±
$s_{\bar{x}}$	0,7	0,6	0,4	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,03	0,1	23

Tab.3 Lidokain-Plasmakonzentrationen in µg/ml und AUC in µg x min/ml während und nach intravenöser Infusion von 3 mg Lidokain bei sechs Ratten des Kontrollkollektivs

Lidokain-Plasmakonzentrationen in µg/ml und AUC in µg x min/ml

Ratten-nummer	während Infusion min		nach der Infusion min												AUC µg x min/ml
	5	10	15	30	45	60	90	120	150	180	210	240			
85	2,50	2,09	0,69	0,55	0,44	0,27	0,18	0,06	0	0	0	0			65,6
88	1,53	1,88	0,93	0,58	0,34	0,28	0,11	0	0	0	0	-			60,0
89	1,61	1,97	1,04	0,79	0,52	0,92	0,25	0,10	0,0	0,03	-	-			90,6
95	1,86	1,59	0,80	0,64	0,53	0,51	0,45	0,52	0,30	-	-	-			95,2
96	1,24	2,13	0,79	0,55	0,35	0,13	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-			52,7
145	3,04	4,17	2,16	1,65	0,99	0,71	0,35	0,23	0,13	0,12	0	-			174,8
$\bar{M} \pm$ $s_{\bar{x}}$	2,0± 0,3	2,3± 0,4	1,1± 0,2	0,8± 0,2	0,5± 0,1	0,5± 0,1	0,3± 0,1	0,2± 0,1	0,2± 0,1	0,07± 0,06	0	0			89,8± 18

Tab.4 Lidokain-Plasmakonzentrationen in µg/ml und AUC in µg x min/ml während und nach intravenöser Infusion von 3 mg Lidokain bei sechs VT mit ANIT-Cholestase

Lidokain-Plasmakonzentrationen in µg/ml und AUC in µg x min/ml

Ratten-nummer	nach oraler Applikation min														AUC µg x min/ml
	2,5	5	7,5	10	15	20	30	45	60	90	120	150	180	210	
47	0,00	0,00	0,00	0,23	0,29	1,64	1,55	1,43	1,36	2,31	-	2,00	0,80	-	292,0
50	0,00	0,27	1,09	1,17	1,54	1,46	2,01	2,82	1,26	1,03	0,59	0,00	-	-	171,2
55	0,00	0,00	0,90	0,56	1,48	2,48	3,18	2,55	2,91	1,82	1,00	1,85	0,25	-	317,7
130	-	0,24	-	0,62	1,70	2,52	2,48	1,50	1,18	0,98	0,42	0,20	-	0,08	159,2
139	-	-	-	0,70	1,04	1,22	2,90	-	2,22	1,56	2,20	0,42	0,90	-	281,4
140	-	0	-	0,48	0,32	1,10	0,54	0,50	0,92	1,18	0,68	0,00	0,00	-	103,0
$\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	0	0,3± 0,01	0,9± 0,09	0,6± 0,10	1,1± 0,30	1,7± 0,30	2,1± 0,40	1,8± 0,40	1,6± 0,30	1,5± 0,20	1,0± 0,30	1,1± 0,50	0,7± 0,20	0,08± 0,00	220,7± 36

Tab.5 Lidokain-Plasmakonzentrationen in µg/ml und AUC in µg x min/ml nach oraler Applikation von 24 mg Lidokain bei sechs Ratten des Kontrollkollektivs

Lidokain-Plasmakonzentrationen in µg/ml und AUC in µg x min/ml

Rattennummer	nach oraler Applikation min														AUC µg x min/ml
	2,5	5	7,5	10	15	20	30	45	60	90	120	150	180	210	
69	0	0	0,19	0,13	0,55	0,92	1,88	1,46	0,95	0,36	1,51	0	0	-	133,5
70	0	0,57	1,65	2,28	2,23	2,35	4,36	2,55	1,54	0,67	0	0	0	-	190,4
71	0	0	0,15	0,27	0,68	1,49	2,11	1,65	1,28	1,42	1,00	0,29	0	-	177,0
72	0	0	0,98	1,65	1,98	3,56	3,29	3,03	2,19	0,99	0,40	0,31	0,00	-	232,1
142	-	0,68	-	1,28	0,99	1,24	1,06	1,83	0,57	0,63	0,29	0	-	-	112,5
143	-	0,51	-	0,56	0,73	0,70	0,86	0,69	0,52	0,32	0,14	0,26	0,43	-	89,7
$\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	0	0,6± 0,04	0,7± 0,40	1,0± 0,30	1,2± 0,30	1,7± 0,40	2,3± 0,50	1,9± 0,30	1,2± 0,30	0,7± 0,20	0,7± 0,30	0,3± 0,01	0,43± 0,00	-	155,9± 21,8

Tab.6 Lidokain-Plasmakonzentrationen in µg/ml und AUC in µg x min/ml nach oraler Applikation von 24 mg Lidokain bei sechs VT mit ANIT-Cholestase

Mittlere Lidokain-Plasmakonzentrationen in µg/ml

	während der Infusion		nach der Infusion											
Zeit min	5	10	5	10	15	30	45	60	90	120	150	180	210	240
Kontrolle i.v.	3,2± 0,7	3,6± 0,6	2,8± 0,4	2,4± 0,3	2,0± 0,3	1,6± 0,3	1,2± 0,2	0,8± 0,2	0,6± 0,1	0,6± 0,2	0,4± 0,2	0,4± 0,2	0,3± 0,03	0,2± 0,1
ANIT i.v.	2,0± 0,3*	2,3± 0,4**	-	-	1,1± 0,2**	0,8± 0,2**	0,5± 0,1**	0,5± 0,1*	0,3± 0,1**	0,2± 0,1	0,2± 0,1	0,07± 0,06	0	0

* = $p < 0,1$; ** = $p < 0,05$

Tab.7 Gegenüberstellung der mittleren Lidokain-Plasmakonzentrationen in µg/ml des Kontrollkollektivs und des Kollektivs der VT mit ANIT-Cholestase während und nach intravenöser Infusion von 3 mg Lidokain in Abhängigkeit von der Zeit

Mittlere Lidokain-Plasmakonzentrationen in µg/ml

Zeit min	nach oraler Applikation													
	2,5	5	7,5	10	15	20	30	45	60	90	120	150	180	210
Kontrolle oral	0	0,3± 0,01	0,9± 0,09	0,6± 0,1	1,1± 0,3	1,7± 0,3	2,1± 0,4	1,8± 0,4	1,6± 0,3	1,5± 0,2	1,0± 0,3	1,1± 0,5	0,7± 0,2	0,08± 0,0
ANIT oral	0	0,6± 0,04*	0,7± 0,4	1,0± 0,3*	1,2± 0,3	1,7± 0,4	2,3± 0,5	1,9± 0,3	1,2± 0,3*	0,7± 0,2**	0,7± 0,3	0,3± 0,01	0,4± 0,0	-

* = n.s.; ** = $p < 0,05$

Tab.8 Gegenüberstellung der mittleren Lidokain-Plasmakonzentrationen in µg/ml des Kontrollkollektivs und des Kollektivs der VT mit ANIT-Cholestase nach oraler Gabe von 24 mg Lidokain in Abhängigkeit von der Zeit

AUC in µg x min/ml

Kollektive	Einzelwerte						$\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$
Kontrolle i.v.	248,5	177,5	272,9	130,2	148,1	193,1	195,0 ± 23,0 *
ANIT i.v.	65,6	60,0	90,6	95,2	52,7	174,8	89,8 ± 18,0 *
Kontrolle oral	292,0	171,2	317,7	159,2	281,4	103,0	220,7 ± 36,0 **
ANIT oral	133,5	190,4	177,0	232,1	112,5	89,7	155,9 ± 21,8 **

* $0,001 < p < 0,01$; ** $0,10 < p < 0,20$

Tab.9 Gegenüberstellung der AUC-Werte der Ratten des Kontrollkollektivs und des Kollektivs der VT mit ANIT-Cholestase nach intravenöser Infusion und oraler Applikation

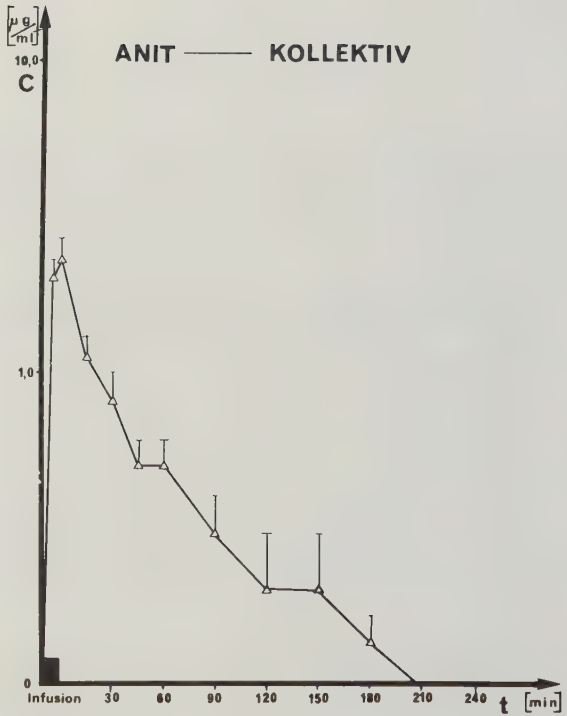
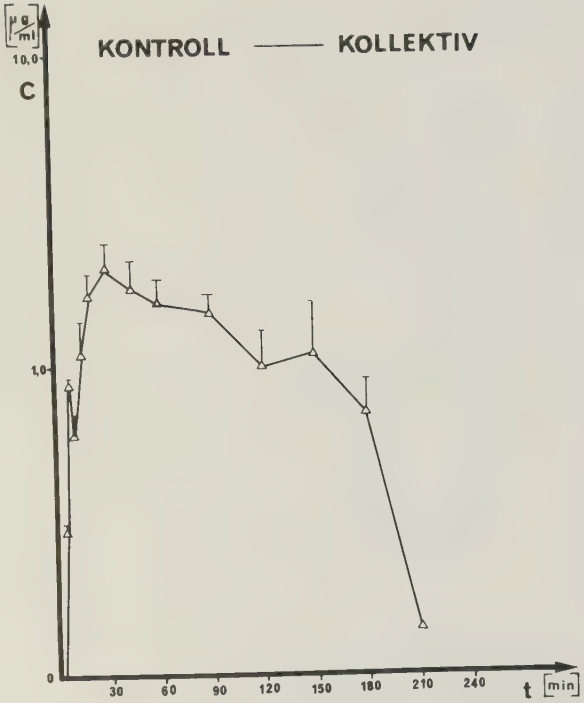


Abb. 3 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Lidokain in Abhängigkeit von der Zeit beim Kontroll- und ANIT-Tierkollektiv während und nach intravenöser Infusion von 3 mg Lidokain in 10 min.



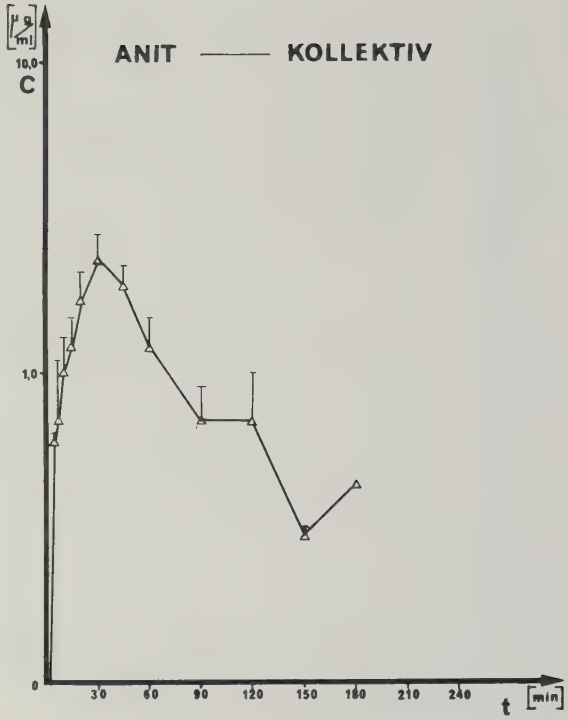


Abb.4 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Lidokain in Abhängigkeit von der Zeit beim Kontroll- und ANIT-Tierkollektiv nach oraler Applikation von 24 mg Lidokain

Die Abbildungen 3 und 4 verdeutlichen diese Befunde anhand der graphisch dargestellten Kurvenverläufe der mittleren Lidokain-Plasmakonzentrationen.

Die folgenden vier Tabellen (Tab.10 - 13) beinhalten die pharmakokinetischen Daten beider Kollektive der intravenösen Versuchsgruppe, wobei die Mittelwerte in Tabelle 14 einander gesondert gegenübergestellt sind. Daraus wird ersichtlich, daß die Lidokain-Halbwertszeit bei den Tieren mit ANIT-Cholestase im Mittel deutlich kürzer ist, jedoch wegen der Streuung im Kontrollkollektiv nicht die geforderte Signifikanz erreicht. Bei den kranken Tieren zeigt die systemische Clearance für Lidokain deutlich und signifikant erhöhte Werte. Aus der Gegenüberstellung mit den oral belasteten Tieren errechnet sich aufgrund dieses Befundes eine um den Faktor 2 - 3 erhöhte Leberdurchblutung. Die Extraktionsrate für Lidokain ist im ANIT-Kollektiv gegenüber dem Kontrollkollektiv deutlich und signifikant vermindert.

Die Tabellen 15 - 18 stellen die pharmakokinetischen Kenngrößen der beiden Kollektive der oralen Versuchsgruppe dar; Tabelle 19 vergleicht die Mittelwerte. Folgende Ergebnisse werden daraus ersichtlich: die Mittelwerte für die maximalen Plasmakonzentrationen sind im ANIT-Kollektiv etwa gleich hoch wie im Kontrollkollektiv, werden jedoch in der Gruppe der Versuchstiere mit ANIT-Cholestase zeitlich früher erreicht. Da die Flächen unter den Plasmakonzentrationskurven in beiden Kollektiven im Mittel nicht signifikant verschieden sind, errechnen sich auch keine

Ratten-nummer	Vd_{area} ml	t/2 min	$Cl_{i.v.}$ ml/min	$Cl_{i.v.}$/100g KG ml/min
45	2832,0	162,6	12,07	5,2
48	2614,3	107,2	16,90	7,3
107	404,8	25,5	11,00	5,1
108	555,5	16,7	23,10	8,0
133	798,5	27,6	20,30	8,5
134	1096,5	48,9	15,50	6,9
$\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	1384 ± 435	65 ± 23	17 ± 2	7 ± 1

Tab.10 Pharmakokinetische Daten nach Infusion von 3 mg Lidokain bei sechs Ratten des Kontrollkollektivs

Ratten-nummer	E	F % der Dosis	Q ml/min	Q/100g KG ml/min	Cl_{oral} errechnet ml/min
45	0,89 ± 0,02	11,1 ± 1,8	13,6 ± 0,3	5,9 ± 0,1	128,0 ± 25,9
48	0,85 ± 0,02	15,2 ± 2,4	20,1 ± 0,6	8,3 ± 0,5	131,5 ± 25,5
107	0,90 ± 0,02	9,5 ± 1,6	12,3 ± 0,2	5,7 ± 0,1	141,5 ± 30,6
108	0,79 ± 0,04	20,8 ± 3,5	29,5 ± 1,3	10,3 ± 0,4	133,8 ± 28,5
133	0,82 ± 0,03	18,0 ± 3,0	25,1 ± 0,9	10,5 ± 0,4	135,1 ± 27,5
134	0,86 ± 0,02	14,2 ± 2,1	18,2 ± 0,5	8,1 ± 0,2	135,2 ± 28,5
$\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	0,85 ± 0,03	14,8 ± 1,7	19,8 ± 2,7	8,1 ± 0,8	134,2 ± 1,8

Tab.11 Fortsetzung von Tabelle 10

Ratten-nummer	Vd_{area} ml	t/2 min	$Cl_{i.v.}$ ml/min	$Cl_{i.v.}$ /100g KG ml/min
85	2017,9	30,6	45,7	19,2
88	1796,5	24,9	50,0	23,0
89	1538,0	32,2	33,1	15,5
95	1590,6	50,5	31,5	13,3
96	1455,8	17,7	57,0	24,2
145	864,0	34,9	17,2	7,5
$\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	1543 ± 159	31 ± 4	39 ± 6	17 ± 3

Tab.12 Pharmakokinetische Daten nach Infusion von 3 mg Lidokain bei sechs Ratten des Kollektivs der VT mit ANIT-Cholestase

Ratten-nummer	E	F % der Dosis	Q ml/min	Q/100g KG ml/min	Cl_{oral} errechnet ml/min
85	0,71 ± 0,04	29,3 ± 4,1	66,1 ± 4,1	27,8 ± 1,7	173,7 ± 25,3
88	0,68 ± 0,04	32,0 ± 4,5	75,8 ± 5,4	34,9 ± 2,5	173,8 ± 24,4
89	0,69 ± 0,09	21,3 ± 2,9	42,5 ± 1,6	19,9 ± 0,8	163,8 ± 43,8
95	0,78 ± 0,03	21,7 ± 2,6	40,6 ± 1,3	17,1 ± 0,6	159,4 ± 23,3
96	0,63 ± 0,05	36,8 ± 5,2	93,9 ± 8,3	26,0 ± 6,9	172,5 ± 25,5
145	0,89 ± 0,02	11,3 ± 1,7	19,4 ± 0,3	8,4 ± 0,2	171,1 ± 27,8
$\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	0,73 ± 0,04	25,4 ± 3,8	56,4 ± 11,1	22,4 ± 3,8	169,1 ± 2,5

Tab.13 Fortsetzung von Tabelle 12

	Vd_{area} ml	t/2 min	$Cl_{i.v.}$ ml/min	/100g KG	Q ml/min	/100g KG	E
Kontrollen n = 6	1384 ± 435	65 ± 23	17 ± 2	7 ± 1	20 ± 3	8 ± 1	0,85 ± 0,03
ANIT n = 6	1543 ± 159	31 ± 4	39 ± 6*	17 ± 3*	56 ± 11**	22 ± 4**	0,73 ± 0,07**

* = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$

Tab.14 Gegenüberstellung der mittleren pharmakokinetischen Kenngrößen für Lidokain bei Kontrolltieren und bei VT mit leichter ANIT-Cholestase nach intravenöser Infusion von 3 mg Lidokain

Rattennummer	Cl_{oral} ml/min	Cl_{oral}/100g KG ml/min	C_{max} mg/l	t_{max} min
47	82,2	34,1	2,31	90
50	140,2	56,8	2,82	45
55	75,5	43,9	3,18	30
130	150,8	64,7	2,52	20
139	85,3	40,2	2,90	30
140	233,0	105,9	1,18	90
$\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	128 ± 25	58 ± 11	2,49 ± 0,29	51 ± 13

Tab.15 Pharmakokinetische Daten nach oraler Gabe von 24 mg Lidokain bei sechs Ratten des Kontrollkollektivs

Ratten-nummer	E	F % der Dosis	Q ml/min	Q/100g KG ml/min	$Cl_{i.v.}$ errechnet ml/min
47	0,80 ± 0,02	20,0 ± 2	21,1 ± 3,0	8,8 ± 3,0	16,2 ± 1,9
50	0,89 ± 0,01	12,0 ± 1	18,9 ± 2,5	7,7 ± 2,5	16,1 ± 1,9
55	0,79 ± 0,02	21,0 ± 2	21,6 ± 3,2	12,6 ± 3,2	16,1 ± 1,9
130	0,89 ± 0,01	11,0 ± 1	18,7 ± 2,4	8,0 ± 2,4	16,1 ± 1,9
139	0,81 ± 0,01	19,0 ± 1	20,8 ± 2,9	9,8 ± 2,9	16,1 ± 1,9
140	0,94 ± 0,01	7,0 ± 1	17,8 ± 2,2	8,1 ± 2,2	15,1 ± 1,8
$\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	0,85 ± 0,03	15,0 ± 2	19,8 ± 0,6	9,2 ± 0,3	16,0 ± 0,2

Tab.16 Fortsetzung von Tabelle 15

Ratten-nummer	Cl_{oral} ml/min	Cl_{oral}/100g KG ml/min	C_{max} mg/l	t_{max} min
69	179,8	77,5	1,88	30
70	126,1	48,5	4,36	30
71	135,6	54,9	2,11	30
72	103,4	42,6	3,56	20
142	213,3	87,8	1,83	45
143	267,6	112,4	0,86	30
$\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	171 ± 25	71 ± 11	2,43 ± 0,52	31 ± 3

Tab.17 Pharmakokinetische Daten nach oraler Gabe von 24 mg Lidokain bei sechs Ratten des Kollektivs der VT mit ANIT-Cholestase

Ratten-nummer	E	F % der Dosis	Q ml/min	Q/100g KG ml/min	$Cl_{i.v.}$ errechnet ml/min
69	0,76 ± 0,03	24 ± 3,0	58,6 ± 8,6	25,3 ± 8,6	41,1 ± 3,1
70	0,66 ± 0,04	34 ± 4,0	69,1 ± 11,7	26,6 ± 11,7	43,1 ± 3,8
71	0,68 ± 0,04	32 ± 4,0	66,3 ± 10,8	26,8 ± 10,8	37,3 ± 3,1
72	0,58 ± 0,05	42 ± 5,0	79,9 ± 15,3	32,9 ± 15,3	37,1 ± 3,4
142	0,80 ± 0,05	20 ± 5,0	55,4 ± 17,3	22,8 ± 17,3	39,1 ± 5,9
143	0,84 ± 0,04	16 ± 4,0	52,6 ± 15,6	22,1 ± 15,6	39,1 ± 5,9
$\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	0,72 ± 0,04	28 ± 3,9	66,8 ± 4,7	26,1 ± 1,6	39,5 ± 0,9

Tab.18 Fortsetzung von Tabelle 17

	C_{max} mg/l	t_{max} min	AUC $\frac{\text{micro g x min}}{\text{ml x 100 g KG}}$	Cl_{oral} ml/min	/100g KG	F % der Dosis
Kontrollen n = 6	2,49 ± 0,29	51 ± 13	104 ± 9	128 ± 25	58 ± 11	14,8 ± 1,7
ANIT n = 6	2,43 ± 0,52	31 ± 3	64 ± 3	171 ± 25	71 ± 11	25,4 ± 3,8

Tab.19 Gegenüberstellung der mittleren pharmakokinetischen Kenngrößen für Lidokain bei Kontrolltieren und bei VT mit leichter ANIT-Cholestase nach oraler Applikation von 24 mg Lidokain

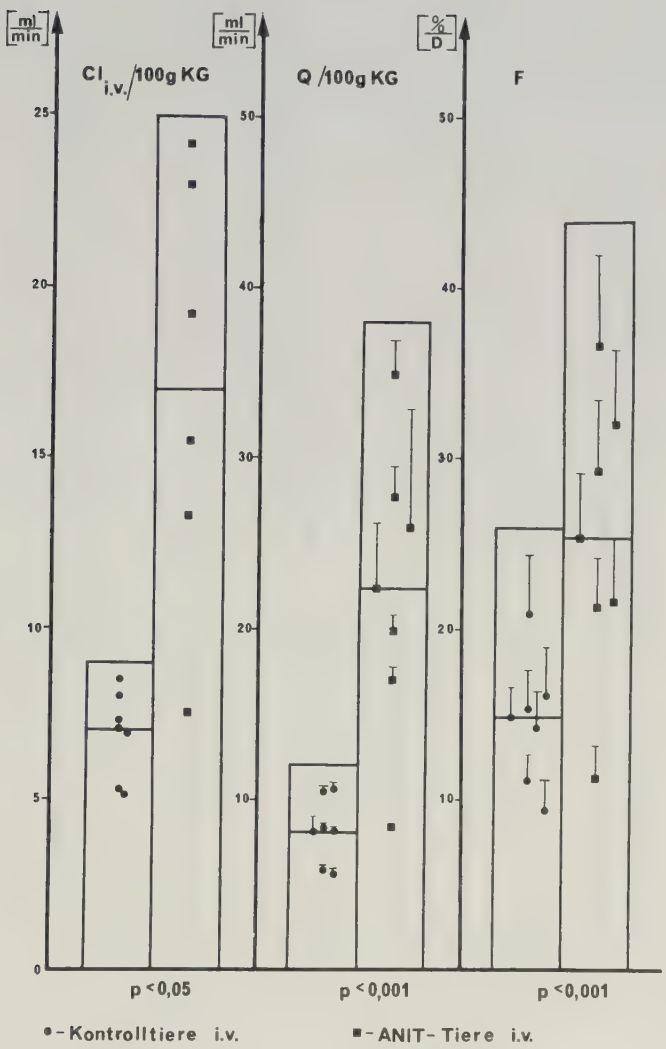


Abb.5 Vergleichende Darstellung der pharmakokinetischen Parameter für Lidokain bei VT des Kontrollkollektivs und des Tierkolletivs mit ANIT-Cholestase nach intravenöser Infusion von 3 mg Lidokain in 10 min

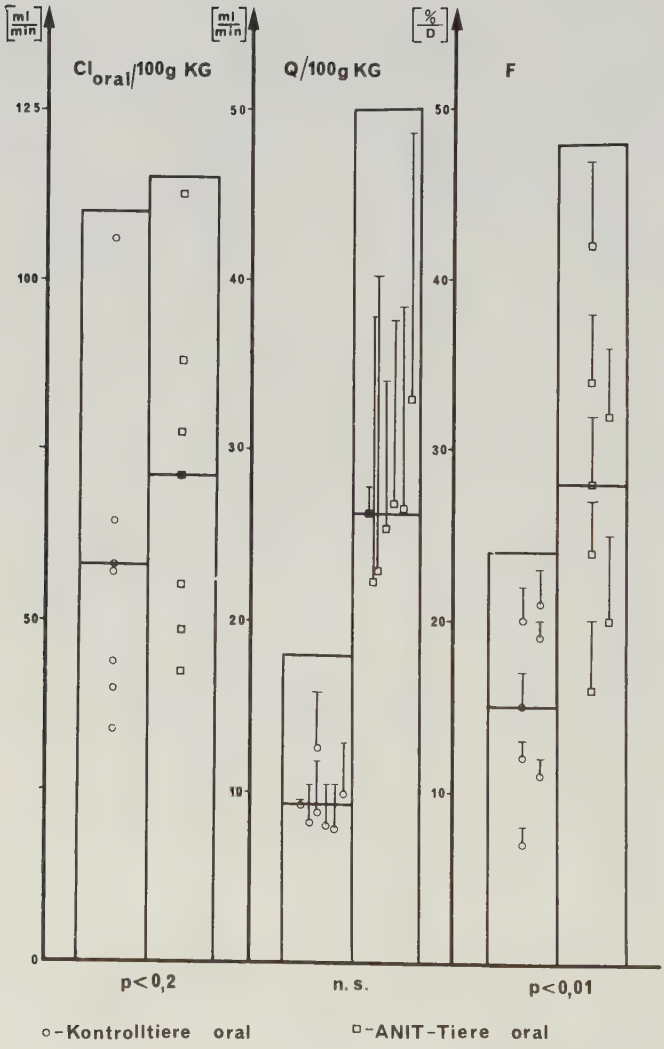


Abb.6 Vergleichende Darstellung der pharmakokinetischen Parameter für Lidokain bei VT des Kontrollkollektivs und des Tierkollektivs mit ANIT-Cholestase nach oraler Applikation von 24 mg Lidokain

wesentlich unterschiedlichen Werte für die orale Clearance. Im Tierkollektiv mit intrahepatischer Cholestase gelangt entsprechend der verminderten Extraktionsrate für Lidokain in der Leber (s.Tab.14) mehr Lidokain in die systemische Zirkulation, was einer erhöhten Bioverfügbarkeit entspricht.

Zur Verdeutlichung der wesentlichen Unterschiede sind in den Abbildungen 5 und 6 die entscheidenden pharmakokinetischen Parameter zwischen den Kontroll- und ANIT-Kollektiven graphisch herausgestellt. Für die Leberdurchblutung Q der VT bezogen auf 100 g KG (s.Abb.6) ergibt sich zwar ein deutlicher Unterschied der Mittelwerte, der aber wegen der großen Streuung in beiden Kollektiven keine Signifikanz aufweist.

2. Ergebnisse aus den Versuchen mit der Rattenleber als input-output-Modell in situ

In den Tabellen 20 und 21 werden die mittleren gemessenen Impulse nach Injektion von H^3-Lidokain in die Pfortader im arteriellen Blut und in der ausgeschiedenen Galle bei je sechs Kontrolltieren und VT mit ANIT-Cholestase dargestellt. Die Tabelle 22 zeigt die mittleren Gewichte in g der jeweils über zwei Minuten abgenommenen Gallenmengen beider Versuchsgruppen; Tabelle 23 beschreibt vergleichend Gewicht und Radioaktivität der gesamten ausgeschiedenen Gallenmengen beider Kollektive. Dabei zeigt sich bei allen gemessenen Größen kein signifikanter Unterschied zwischen den lebergesunden Tieren und solchen mit experimentell erzeugter Leberschädigung.

Zeit s	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
Ko $\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	-	173 ±10	365 ±48	567 ±62	717 ±107	839 ±154	925 ±141	1098 ±215	1102 ±174	1212 ±173	1235 ±175	1254 ±163
ANIT $\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	18 ±12	309 ±47	525 ±59	608 ±84	742 ±142	844 ±161	907 ±148	1026 ±150	1058 ±119	1128 ±118	1178 ± 86	1162 ±111

p = n.s.

Tab.20 Mittlere gemessene Impulse nach Injektion von H^3-Lidokain in die Pfortader in 50 µl arteriellem Blut in Abhängigkeit von der Zeit bei sechs Kontrolltieren und sechs VT mit ANIT-Cholestase

Zeit min	2	4	6	8	10
Ko $\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	-	6 377 ± 2 539	35 794 ± 15 413	86 024 ± 21 257	144 903 ± 31 450
ANIT $\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	-	12 891 ± 4 093	43 029 ± 16 741	96 825 ± 38 059	121 040 ± 37 373

p = n.s.

Tab.21 Mittlere gemessene Impulse nach Injektion von H^3-Lidokain in die Pfortader in der über jeweils 2 Minuten abgenommenen Gallenmenge bei sechs Kontrolltieren und sechs VT mit ANIT-Cholestase

Zeit min	2	4	6	8	10
Ko $\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	0,0237 ± 0,0045	0,0216 ± 0,0039	0,0168 ± 0,0032	0,0199 ± 0,0040	0,0199 ± 0,0022
ANIT $\bar{M} \pm s_{\bar{x}}$	0,0306 ± 0,0022	0,0277 ± 0,0018	0,0230 ± 0,0025	0,0236 ± 0,0042	0,0242 ± 0,0029

p = n.s.

Tab.22 Mittlere Gewichte in g der jeweils über 2 Minuten abgenommenen Gallenmengen bei sechs Kontrolltieren und bei sechs VT mit ANIT-Cholestase

	$\sum$ aller Gallegewichte g	$\sum$ cpm pro 10 µl	$\sum$ cpm gesamt
Ko	0,1019	144 378	273 098
ANIT	0,1291	109 827	273 785

Tab.23 Vergleichende Darstellung des Gewichtes und der Radioaktivität der gesamten über 10 min ausgeschiedenen Gallenmenge nach Injektion von H^3-Lidokain in die Pfortader bei je sechs Kontrolltieren und sechs VT mit ANIT-Cholestase

VI. D I S K U S S I O N

Der Diskussion soll zunächst eine kurze Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse vorausgehen:

1. Die Verabreichung von 20 mg ANIT/kg KG an die Versuchstiere bewirkt, wie aus den gewonnenen Laborwerten zu entnehmen ist, nur einen relativ leichten toxischen Leberschaden.

2. Nach intravenöser Infusion liegen die Lidokainplasmakonzentrationen bei den VT mit ANIT-Cholestase gegenüber den Kontrolltieren signifikant niedriger, während ein derartiger Bezug zwischen gesunden und kranken Tieren nach oraler Applikation nicht erkennbar ist.

3. Die systemische Clearance für Lidokain ist nach intravenöser Anwendung bei den Tieren mit Cholestase signifikant erhöht, die Extraktionsrate für Lidokain aber vermindert. Bei oraler Verabfolgung von Lidokain liegen die Clearancewerte beider Tiergruppen nahezu gleich, vermindert ist lediglich die Extraktionsrate.

4. In den Versuchen mit der Rattenleber als input--output-Modell in situ ergeben sich hinsichtlich ausgeschiedener Gallenmengen und Impulszahlen in arteriellem Blut bzw. in der Galle zwischen beiden Tiergruppen keine signifikanten Unterschiede.

Die Serumwerte der mit ANIT vorbehandelten Tiere zeugen von einer relativ leichten Cholestase (46). Lebererkrankungen dieses Schweregrades führen nicht zu einer Beeinträchtigung des Arzneimittelmetabolismus in der Leber (10,45).

Die Mittelwertkurven für die Plasmakonzentration nach oraler und intravenöser Verabreichung im Kontroll- und Cholestase-Kollektiv (s.Abb.3 und 4) zeigen, daß oral 24 mg Lidokain verabfolgt werden müssen, um Plasmakonzentrationen zu erhalten, die nach intravenöser Infusion von 3 mg Lidokain erreicht werden.

Die beschriebene gaschromatographische Methode zur Lidokainbestimmung erwies sich als selektiv und sensitiv. So konnten Lidokain- und MEGX-Konzentrationen im Bereich von 0,1 - 20 mg/l aus 100 µl Vollblut erfaßt werden. Die Eichgeraden in diesem Konzentrationsbereich sind linear (SD $<$5 %, n = 4). Die Extraktion bei pH 10 (konzentrierte NH_4OH) mit Chloroform erbrachte im Gaschromatogramm bei den Retentionszeiten für Lidokain, MEGX und dem internen Standard (Dolantin^R) keine störenden peaks endogener Substanzen (11). Die genauen Daten über die Bestimmungsmethode, Erstellung der Eichgeraden und recovery werden später ausführlich beschrieben (19).

Jeweils an getrennten Tierkollektiven wurde die intravenöse und orale Applikation mit Lidokain vorgenommen. Alle Tiere der i.v.-Gruppe wurden zu allen Tieren der oralen Gruppe in Beziehung gesetzt. Diese Versuchsanordnung bedingt eine erhöhte Variabilität der errechneten Werte

für die Leberdurchblutung und die Lidokainextraktionsrate. Es wird aber davon ausgegangen, daß diese Variabilität nicht geringer wäre, wenn jeweils eine orale und eine i.v.-Belastung, zeitlich versetzt, am gleichen Versuchstier erfolgt wäre, weil zum einen die ausgelösten toxischen Leberschäden selbst eine Kinetik haben und zum anderen die Beeinflussung der zweiten Untersuchung durch evtl. vorhandene Metabolite nach der ersten Untersuchung nicht ausgeschlossen wäre.Nach Untersuchungen von PANG und ROWLAND an der isoliert perfundierten Rattenleber wird durch Vorhandensein von MEGX die Extraktionsrate für Lidokain vermindert (36).

Die gleichzeitige Verabfolgung von radioaktiv markiertem Lidokain i.v. und nicht markiertem Lidokain oral -wie sie von KORNHAUSER und Mitarbeiter für Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Propranolol bei Patienten angewendet wurde- erwies sich bei unseren Versuchstieren als nicht praktikabel, da es unmöglich war, radioaktiv markiertes Lidokain befriedigend von rasch entstehenden markierten Metaboliten abzutrennen (2,24).

Für die Versuchstiere im Kontrollkollektiv stimmen die berechneten Werte für die Leberdurchblutung mit denen überein, die unter Verwendung ganz verschiedener Methoden bei Ratten erhoben worden sind (27,35,43,44,50). Die von uns gefundene Extraktionsrate für Lidokain von im Mittel 0,85 stimmt mit der überein, die PANG und ROWLAND bei Verwendung einer isoliert perfundierten Rattenleber in dem mutmaßlichen Konzentrationsbereich gefunden haben (36).

Bei dem in der vorliegenden Arbeit verwendetem tierexperimentellen Modell für eine geringgradige toxische Leberschädigung durch ANIT ist ein signifikanter Anstieg der i.v.-Clearance für Lidokain gemessen worden, der auf eine erhebliche Steigerung der Leberdurchblutung zurückgeführt werden muß (s.Tab.14). Die Ursache dieser erhöhten Leberdurchblutung ist nicht offensichtlich, jedoch haben LIEHR und Mitarbeiter mit ganz anderer Methodik einen vergleichbaren Anstieg der Leberdurchblutung bei Ratten mit ANIT--Cholestase gemessen (27). In diesen Untersuchungen fand sich auch eine deutliche Erhöhung der Herzzeitvolumina der Versuchstiere, die vermutlich auf eine erhöhte Körpertemperatur unter den Bedingungen der experimentellen Leberschädigung zurückzuführen ist (18,27). BALLARD hat einen deutlich erhöhten Arzneimittelumsatz bei erhöhter Körpertemperatur beschrieben (3).

In den untersuchten Tierkollektiven besteht eine signifikante positive Korrelation zwischen der Höhe der errechneten Leberdurchblutung Q und der errechneten Bioverfügbarkeit F (s.Abb.7), was einer verminderten Extraktionsrate E bei erhöhter Leberdurchblutung gleichkommt. Diese Beziehung ist von PANG und ROWLAND abgeleitet worden und in Untersuchungen an der isoliert perfundierten Rattenleber auch experimentell nachgewiesen worden (36).

Nach Berechnungen im Kleincomputer wurde festgestellt, daß die beschriebene Beziehung am ehesten durch eine lineare Funktion ausgedrückt werden kann. Möglicherweise ergibt sich -was diesen mathematischen Zusammenhang

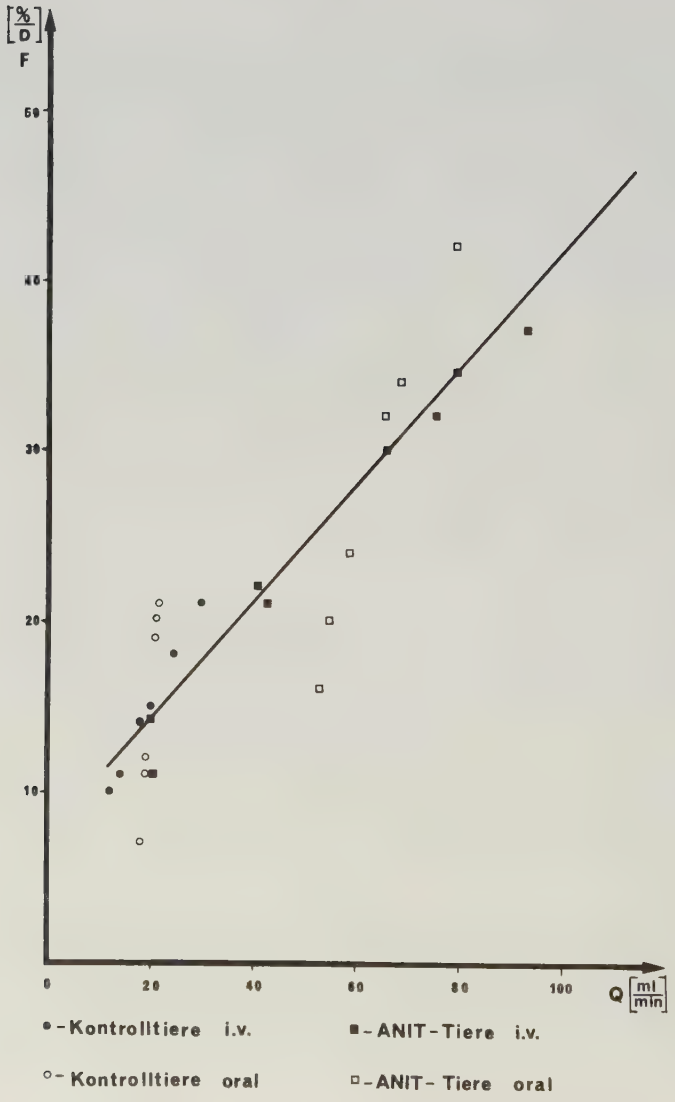


Abb.7 Korrelation zwischen berechneten Bioverfügbarkeit F und Leberdurchblutung Q

betrifft- deshalb keine Übereinstimmung mit den Ergebnissen der beiden obengenannten Autoren, weil die in der hier vorliegenden Arbeit verwendeten Werte in einer anderen Größenordnung liegen. Hingegen wurde von PANG und ROWLAND in ihrem Versuchsmodell II auch eine fast lineare Beziehung zwischen F und Q gefunden (36).

Nach oraler Verabfolgung einer high-clearance-Substanz reagieren die Plasmakonzentrationskurven besonders sensibel gegenüber Änderungen der hepatischen Extraktionsrate. Ihre Verminderung erhöht den Anteil des nicht metabolisierten Pharmakons, das die systemische Zirkulation erreicht und darüberhinaus verlängert sie die Zeit, die die Substanz in der systemischen Zirkulation verbleibt. Die Fläche unter der Plasmakonzentrationskurve nach oraler Verabfolgung ist nämlich in zweierlei Weise von der Extraktionsrate abhängig.

$$AUC_{oral} = \frac{D \times (1-E)}{Q \times E};$$

In meinen Untersuchungen wirkt sich dies nicht aus, da gleichzeitig die Leberdurchblutung erheblich angestiegen ist, und somit die Verminderung der Extraktionsrate mehr als kompensiert wird (s.Tab.19). Auch die gemessenen peak-Plasmakonzentrationen bieten keinen Hinweis, daß in der Gruppe der Versuchstiere mit Leberschädigung in stärkerem Maße toxische Plasmakonzentrationen auftreten als in der Kontrollgruppe. Beim Menschen liegen die therapeutisch wirksamen Plasmakonzentrationen im Bereich von 2 - 3 µg/ml (26).

Die beobachtete erhöhte Bioverfügbarkeit für Lidokain bei den Versuchstieren mit Leberschädigung wird durch die erhöhte i.v.-Clearance wieder kompensiert. Da das arzneimittelmetabolisierende Enzymsystem in der Leber durch die vorliegende geringfügige Leberschädigung nicht beeinträchtigt wird, resultiert mutmaßlich die erhöhte Bioverfügbarkeit allein aus der gesteigerten Leberdurchblutung.

Die Versuchsergebnisse des Modells mit der Rattenleber als input-output-Modell in situ fügen sich insofern gut in die Gesamtresultate ein, als nahezu keine Unterschiede in den Impulszahlen von Kontroll- und Cholestase-Kollektiv zu erkennen sind, was als zusätzlicher Beweis für die geringe Ausprägung der durch ANIT bewirkten Cholestase und den nicht beeinträchtigten Arzneimittelmetabolismus in der Leber gewertet werden kann.

Diese Versuche wurden im Rahmen einer größer angelegten Studie zur „Bioverfügbarkeit von high clearance Pharmaka bei Patienten mit Lebererkrankungen" durchgeführt (BAM 11). Diese Ergebnisse und bislang an Patienten gewonnene Hinweise lassen nicht den Schluß zu, daß oral gegebene high clearance Substanzen bei geringgradiger Leberschädigung eine besondere Gefährdung darstellen. Nur bei Patienten mit portal dekompensierter Lebercirrhose ist dies bislang beschrieben worden (12,21,24,33,37).

VII. Z U S A M M E N F A S S U N G

Ratten mit leichter ANIT-Cholestase wurden in getrennten Kollektiven mit 3 mg Lidokain i.v. oder 24 mg Lidokain oral belastet. Die Lidokainplasmakonzentrationen wurden über 3 1/2 Stunden gaschromatographisch gemessen. Die systemische Clearance für Lidokain ($Cl_{i.v.}$) war bei der Gruppe mit ANIT-Cholestase (17 ± 3ml/min x 100 g KG) gegenüber dem Kontrollkollektiv (7 ± 1ml/min x 100 g KG) deutlich erhöht.

Die orale Clearance für Lidokain (Cl_{oral}) war in den Kollektiven nicht signifikant verändert (ANIT:
71 ± 11ml/min x 100 g KG bzw. Kontrollen:
58 ± 11ml/min x 100 g KG).

Aus der Gegenüberstellung der jeweils i.v. und oral belasteten Kollektive errechnet sich für die Versuchstiergruppen mit experimenteller ANIT-Cholestase eine deutlich erhöhte Leberdurchblutung
(22 ± 4ml/min x 100 g KG bzw. 9 ± 1ml/min x 100 g KG).

Dementsprechend ist die hepatische Extraktionsrate für Lidokain bei den Ratten mit ANIT-Cholestase signifikant erniedrigt (0,73 ± 0,07 bzw. 0,85 ± 0,03).

Die damit gegebene erhöhte orale Bioverfügbarkeit für Lidokain bei den kranken Tieren führt nicht zu toxischen Lidokainplasmakonzentrationen, da die erhöhte systemische Clearance dies kompensiert.

Herrn Professor Dr.med.H.A.Kühn danke ich für die Arbeitsmöglichkeit in der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg und die Übernahme des Korreferates.

Herrn Professor Dr.med.E.Richter gilt mein Dank für die Überlassung des Themas, die freundliche Einführung und die außerordentliche Hilfe bei der Interpretation und Darstellung der Ergebnisse.

Herrn Dr.rer.nat.H.Heusler danke ich für die sorgfältige gaschromatographische Analyse der Lidokainproben und für die Abhandlung des Kapitels „Gaschromatographische Bedingungen".

Frl.D.Albütz und Frl.R.Sauer gilt mein Dank für die hervorragende technische Assistenz.

Meinem Kollegen B.Lutz danke ich für die sehr gute, immer einsatzbereite Zusammenarbeit, angefangen bei den tierexperimentellen Versuchen bis hin zur Auswertung der Ergebnisse.

VIII. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. von BAHR,C., FELLENIUS,E., FRIED,I.:
   On the „first pass" effect in the liver of nortryptiline, lidocaine and propranolol.
   Acta pharmacol. et toxicol. 31, Suppl. 1, 92 (1972)

2. von BAHR,C.H., HEDLUND,I., KARLEN,B., BÄCKSTRÖM,D., GRASDALEN,H.:
   Evidence for two catalytically different binding sites of microsomal Cytochrome P-450: importance for species and sex differences in oxydation pattern of Lidocaine.
   Acta pharmacol. toxicol. 41, 39 (1977)

3. BALLARD,B.E.:
   Pharmacokinetics and temperature.
   J.Pharm. Sci. 63, 1345 (1974)

4. BOYES,R.N., KEENAGHAN,J.B.:
   Some Aspects Of The Metabolism And Distribution Of Lidocaine In Rats, Dogs, And Man.
   aus „Lidocaine in the Treatment of Ventricular Arrhythmias"
   edited by SCOTT,D.B., and JULIAN,D.C. (1971)

5. BURNEY,R.G., DI FAZIO,C.A., PEACH,I.J., PETRIE,K.A., SILVESTER,M.J.:
   Antiarrhythmic effects of lidocaine metabolites.
   Am. Heart J. 88, 765 (1974)

6. CLODI,P.H., STEFENELLI,N.:
Gallenfluß, Gallendruck und Bromsulphthalein--Ausscheidung bei der experimentellen intrahepatischen Cholestase der Ratte.
Z.ges.exp.Med. 142, 1-8 (1967)

7. DREW,R., PRIESTLY,B.G.:
Microsomal drug metabolism during α-naphtylisothiocyanate-induced cholestasis.
Tox.appl.Pharmacol. 35, 491-499 (1976)

8. EL-HAEARI,A.M., PLAA,G.L.:
α-Naphthylisothiocyanate (ANIT) hepatotoxicity and irreversible binding to rat liver microsomes.
Biochem.Pharmacol. 26, 1857-1866 (1977)

9. ELIAKIM,M., EISNER,M., UNGAR,H.:
Experimental intrahepatic obstructive jaundice following ingestion of - α-naphtylisothiocyanate.
Bull.Res.Counc.of Israel 8 E 7-17 (1959)

10. EPPING,J., HEUSLER,H., BRACHTEL,D., RICHTER,E.:
First pass pharmacokinetics of Methohexital in experimental liver disease of the rat.
In: Rietbrock,N., Neuhaus,G., Woodcock,B. (Hrsg.)
Proceedings „Methods in Clinical Pharmacology"
Viehweg-Verlag, Wiesbaden (1980)

11. FUCHSHOFEN,M., HEUSLER,H., LUTZ,B., MORA,E., RICHTER,E.:
Orale und intravenöse Clearance von Lidokain bei Ratten mit leichter ANIT-Cholestase und Galaktosaminhepatitis.

12. FUCHSHOFEN,M., ZILLY,W., EPPING,J., RICHTER,E.:
Pharmakokinetik von Lidokain nach intravenöser und oraler Applikation bei Patienten mit Lebercirrhose.
Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med. 84, 1110 (1978)

13. GEDDES,I.C., DOUGLAS,D.E.:
The metabolism of lidocaine 14C in vitro.
Fed.Proc. 15, 260 (1956)

14. GIBALDI,M., BOYES,R.N., FELDMANN,S.:
Influence of first pass effect on availability of drugs.
J.Pharm.Sci. 60, 1338 - 1340 (1971)

15. GIBALDI,M., PERRIER,D.:
Pharmakokinetics.
Dekker, Marcel, Inc.New York 69 (1975)

16. GOLDFARB,S., SINGER,E.J., POPPER,H.:
Experimental cholangitis due to α-Naphtylisothiocyanate (ANIT).
Am.J.Pathol. 40, 685-694 (1962)

17. GREIM,H., TRÜLZSCH,D., ROBOZ,J., DRESSLER,K., CZYGAN,P., HUTTERER,F., SCHAFFNER,F., POPPER,H.: Mechanism of cholestasis, 5. Bile acids in normal rat livers and in those after bile duct ligation. Gastroenterol. 63, 837 - 845 (1972)

18. GRÜN,M.: Die Bedeutung der RES-Funktion für die Pathogenese von Lebererkrankungen. Habilitationsschrift, Würzburg (1978)

19. HEUSLER,H., RICHTER,E.: (in Vorbereitung)

20. HOLLUNGER,G.: On the Metabolism of Lidocaine. II. The Biotransformation of Lidocaine. Acta pharmacol.et toxicol. 17, 365 (1960)

21. HOMEIDA,M., JACKSON,L., ROBERTS,C.J.C.: Decreased first pass metabolism of labetalol in chronic liver disease. Brit.Med.J. 2, 1048 (1978)

22. KEENAGHAM,J.B., BOYES,R.N.: The Tissue Distribution, Metabolism and Excretion of Lidocaine in Rats, Guinea, Pigs, Dogs and Man. Journ.pharm.exp.ther. 2, 454 (1972)

23. KEIDING,S.:
Hepatic Elimination Kinetics: The Influence of Hepatic Blood Flow on Clearance Determinations.
Sound.J.clin.Lab.Invest. 36, 113 (1976)

24. KORNHAUSER,D.M., WOOD,A.J.J., VESTAL,R.E., WILKINSON,G.R., BRANCH,R.A., SHAND,D.G.:
Biological determinants of propranolol disposition in man.
Clin.Pharmacol.Ther. 23, 165 (1978)

25. LEINWEBER,B., RICHTER,E., KÜHN,H.A.:
Histologische Befunde und Proteinsynthese der Rattenleber bei ANIT-Cholestase.
Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med. 75, 365 (1969)

26. LEVY,R.H., SMITH,G.H.:
Dosage regimens of antiarrhythmics.
Amer.J.Hosp.Pharm. 30, 398 (1973)

27. LIEHR,H., GRÜN,M., THIEL,H.:
Die Durchblutung der pathologisch veränderten Leber.
Anaesthesiol.Informationen 1, 11 (1977)

28. LOPEZ,M., MAZZANTI,L.:
Experimental investigations on alpha-naphthyl--iso-thiocyanate as a hyperplastic agent of the biliary ducts in the rat.
J.Path. & Bact. 69, 243 - 250 (1955)

29. MC LEAN,M.R., REES,K.R.:
Hyperplasia of bile ducts induced by α-naphtyl--isothiocyanate:
experimental biliary cirrhosis free from biliary obstruction.
J.Path.Bact. 76, 175 - 187 (1958)

30. MC MAHON,F.G., WOODS,L.A.:
Further studies on the metabolism of Lidocaine in the dog.
J.Pharmacol.Exp.Ther. 103, 354 (1951)

31. MORAN,E., ELLAKIM,M., SUCHOWOLSKI,A., UNGAR,H.:
Serum Vitamin B_{12} and glutamin-oxalacetic transaminase in experimental intrahepatic obstructive jaundice.
Gastroenterology 40, 408 (1961)

32. NARANG,P.K., CROUTHAMEL,W.G., CARLINER,N.H., FISCHER,M.L.:
Lidocaine and its active metabolites.
Clin.Pharmacol.Ther. 24, 654 - 662 (1978)

33. NEAL,E.A., MEFFIN,P.J., GREGORY,P.B., BLASCHKE,T.F.:
Enhanced bioavailability and decreased clearance of analgesics in patients with liver cirrhosis.
Gastroenterlogy 77, 96 (1979)

34. NYBERG,G., KARLE,B., HEDLUND,J., GRUADIN,R., von BAHR,C.:
Extraction and Metabolism of Lidocaine in Rat Liver.
Acta pharmacol.et.toxicol. 40, 337 (1977)

35. OHNHAUS,E., LOCKER,J.T.:
Liver blood flow and blood volume following chronic phenobarbitone administration.
Europ.J.Pharm. 31, 161 (1975)

36. PANG,K.S., ROWLAND,M.:
Hepatic clearance of drugs I - III.
J.Pharmakokin.Biopharm. 5, 625 (1977)

37. PENTIKAINEN,P.J., NEIVONEN,P.J., TARPILA,S., SYVALAHTI,E.:
Effect of cirrhosis of the liver on the pharmacokinetics of chlormethiazole.
Brit.Med.J. 2, 861 (1978)

38. PLAA,G.L.:
Functional aspects of the cholestatic response induced by ANIT in mice and rats.
Agents and Actions 1, 22 - 27 (1969)

39. PLATT,D., PLATT,M.:
Histochemischer Nachweis der α-Glucuronidase (EC 3.2.1.31) und β-Acetylglucosaminidase (EC 3.2.1.30) in der Rattenleber nach Gabe von 1-Naphthyl-Isothiocyanat und D-Galactosamin-HCl.
Klin.Wschr. 48, 1421 (1970)

40. PLATT,D., SCHNORR,B.:
Ultrastrukturelle Veränderungen der Rattenleber nach Gabe von 1-Naphtylisothiocyanat (ANIT).
Acta hepato-gastroenterlo. 19, 356 - 361 (1972)

41. POPPER,H., SCHAFFNER,F.:
Pathophysiology of cholestasis.
Human Pathology 1, 1 - 24 (1970)

42. POPPER,H., SCHAFFNER,M.S.:
Cholestasis is the result of hypoactive hypertrophic endoplasmatic reticulum in the hepatocyte.
DANCET II, 355 (1969)

43. RICE,J.C., LEIBERMANN,D.P., MATHIE,R.T., RYAN,C.J., HARPER,A.M., BLUMGART,L.H.:
Liver tissue blood flow measured by ^{85}KR clearance in the anaesthetized rat before and after partial hepatectomy.
Br.J.exp.Path. 58, 243 (1977)

44. RICE,G.C., RYAN,C.J., LEIBERMANN,D.P., MATHIE,R.T., MCGHEE,E., HARPER,A.M., BLUMGART,L.H.:
Measurement of liver blood flow in the rat using an ^{85}krypton clearance technique.
Br.J.exp.Path. 58, 236 (1977)

45. RICHTER,E., GALLENKAMP,H., KELLER,B., BRACHTEL,D., ZILLY,W., BREIMER,D.D.:
Metabolismus von Hexobarbital bei Hepatitis und Zirrhose.
Z.Gastroent. 15, 381 (1977)

46. RICHTER,E., GRÜN,M., KÜHN,H.A.:
Proteinsynthese und Ikterus bei der ANIT-
-Cholestase der Ratte.
Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med. 75, 367 - 369 (1969)

47. ROBERTS,R.J., PLAA,G.L.:
Potentiation and inhibition of α-naphtylisothio-
cyanate-induced hyperbilirubinemia and cholestasis.
J.Pharmacol.exp.Ther. 150, 499 - 506 (1965)

48. ROBERTS,R.J., PLAA,G.L.:
Alteration of the plasma disappearance and
biliary excretion patterns of exogenously admini-
stered bilirubin by α-naphtylisothiocyanate.
J.Pharmacol.exp.Ther. 155, 330 - 336 (1967)

49. ROWLAND,M., THOMSON,P.D., GUICHARD,A.,
MELMON,K.L.:
Disposition Kinetics of Lidocaine in Normal
Subjects.
Annals New York Academy of Sciences S. 383

50. RYAN,C.J., GUEST,J., HARPER,A.M., BLUMGART,L.H.:
Liver blood flow measurements in the portocavally
transposed rat before and after partial hepatectomy.
Br.J.exp.Path. 59, 111 (1978)

51. SACHS,L.:
Angewandte Statistik, statistische Methoden und
ihre Anwendungen.
Springer Verlag 1978

52. SCHAFFNER,H., SCHARNBECK,H., HUTTERER,F., DENK,H., GREIM,H.A., POPPER,H.:
Mechanism of cholestasis: VII. α-naphtylisothiocyanate induced jaundice.
Lab.Invest. 28, 321 - 331 (1973)

53. SMITH,E.R., DUCE,B.R.:
The acute anti-arrhythmic and toxic effects in mice and dogs of 2-ethylamino-2,6-acetoxylidine (C-86) a metabolite of lidocaine.
J.Pharmacol.Exp.Ther. 179, 580 (1971)

54. SMITH,E.R., DUCE,B.R., BOYLES,R.N.:
Antiarrhythmic effects in dogs of lidocaine administered orally and intravenously.
Am.Heart J. 83, 365 (1972)

55. SPYCHER,M.A., RÜTTNER,J.R.:
Zur Pathologie des Icterus-Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Frühveränderungen der Leberparenchymzellen beim alpha-naphthyl-isothiocyanat induzierten Icterus der Ratte.
Path.Microbiol. 27, 387 (1964)

56. STEFENELLI,N., HOLZNER,J.H.:
Experimentelle Cholestase der Ratte durch einmalige Gabe von alpha-Naphthyl-isothiocyanat (ANIT).
Z.ges.exp.Med. 139, 762 (1965)

57. STEINER,J.W., BAGILO,C.M.:
Electron microscopy of the cytoplasm of parenchymal cells in alpha-naphthylisothiocyanate--induced cirrhosis.
Lab.Invest. 12, 765 (1963)

58. SUNG,C.Y., TRUANT,A.P.:
Physiological disposition of lidocaine and its comparison in some respects with procaine.
J.Pharmacol.Exp.Ther. 112, 432 (1954)

59. UNGAR,H., POPP,J.A.:
Acute cholecystitis and persistent liver necrosis in mice provoked by Isothiocyanate.
Arch.Pathol.Lab.Med. 100, 127 - 131 (1976)

L E B E N S L A U F

Am 25.Juni 1955 wurde ich als Sohn der Eheleute Wilhelm und Erna Mora, geb.Schwarz, in Dingolfing geboren.

Von 1962 bis 1966 besuchte ich die Volksschule St.Anton in Passau, 1966 trat ich in das Adalbert-Stifter-Gymnasium über, welches ich drei Jahre besuchte. Von 1969 bis 1975 war ich Schüler des Gymnasiums Vilshofen und bestand dort am 21.Juni 1975 die Reifeprüfung.

Vom 1.Juli bis 31.Oktober 1975 leistete ich einen Teil meiner Wehrpflicht ab.

Mit dem Wintersemester 1975/76 begann ich das Studium der Zahnmedizin an der Universität Würzburg, wo ich am 12.Oktober 1976 das Vorphysikum, am 18.April 1978 das Physikum ablegte. Den klinischen Teil des Studiums absolvierte ich vom Sommersemester 1978 an bis zum Sommersemester 1980.

Im Zeitraum September 1978 bis Mai 1980 erstellte ich im Labor von Herrn Professor Dr.E.Richter in der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg meine Promotionsarbeit.

Am 29.Januar 1981 bestand ich das zahnmedizinische Staatsexamen. Seit 3.März 1981 leiste ich meinen restlichen Grundwehrdienst von 11 Monaten als Stabsarzt bei der Bundeswehr ab.

Jonni Mora